

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales

Análisis genético de la raya dorada (*Rhinoptera steindachneri*) de

Galápagos: Una confirmación molecular de la especie.

Martha Marianela Castillo Gómez

Gestión Ambiental

Trabajo de fin de carrera presentado como requisito
para la obtención del título de
Licenciatura en Gestión Ambiental

Galápagos, San Cristóbal, 26 de mayo, 2025

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales

HOJA DE CALIFICACIÓN DE TRABAJO DE FIN DE CARRERA

**Análisis genético de la raya dorada (*Rhinoptera steindachneri*) de
Galápagos: Una confirmación molecular de la especie.**

Martha Marianela Castillo Gómez

Nombre del profesor

Diana Pazmiño, PhD

Galápagos, San Cristóbal, 26 de mayo, 2025

© DERECHOS DE AUTOR

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en la Ley Orgánica de Educación Superior del Ecuador.

Nombres y apellidos: Martha Marianela Castillo Gómez

Código: 00322425

Cédula de identidad: 2050000062

Lugar y fecha: Galápagos, San Cristóbal, 26 de mayo, 2025

ACLARACIÓN PARA PUBLICACIÓN

Nota: El presente trabajo, en su totalidad o cualquiera de sus partes, no debe ser considerado como una publicación, incluso a pesar de estar disponible sin restricciones a través de un repositorio institucional. Esta declaración se alinea con las prácticas y recomendaciones presentadas por el Committee on Publication Ethics COPE descritas por Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing, disponible en <http://bit.ly/COPETheses>.

UNPUBLISHED DOCUMENT

Note: The following capstone project is available through Universidad San Francisco de Quito USFQ institutional repository. Nonetheless, this project – in whole or in part – should not be considered a publication. This statement follows the recommendations presented by the Committee on Publication Ethics COPE described by Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing available on <http://bit.ly/COPETheses>.

RESUMEN

El género *Rhinoptera* (rayas doradas) está conformado por ocho especies reconocidas formalmente. Sin embargo, dada la similitud morfológica entre ellas, su taxonomía aún no ha sido completamente resuelta. Estudios previos en el Pacífico Oriental (PO) sugieren que *R. steindachneri* podría tratarse de un complejo de especies. En Galápagos, existe información limitada para la raya dorada. Aunque la literatura indica que, por su ubicación en el PO, se trata de *R. steindachneri*, actualmente no existe confirmación morfológica o molecular. El objetivo de este trabajo fue confirmar molecularmente la especie del género *Rhinoptera* observada en Galápagos mediante un análisis filogenético usando Máxima Verosimilitud. Para lograrlo, se extrajo, amplificó (gen COI), y secuenció ADN a partir de muestras de Galápagos (n=5) y México (n=5) que se analizaron junto con secuencias de *R. steindachneri*, *R. brasiliensis*, *R. javanica*, *R. jayakari*, *R. bonasus*, y *R. marginata* obtenidas de GenBank. La filogenia agrupó las muestras de Galápagos con la única secuencia disponible de *R. steindachneri* (soporte=42). Además, indicó una relación cercana de esta con *R. brasiliensis* y *R. marginata* (soporte=1). Por otro lado, las muestras de México se agruparon con muestras de *R. bonasus* provenientes del Atlántico (soporte=97). Estos resultados confirman la presencia de al menos dos especies de *Rhinoptera* en el PO. La identificación correcta es crucial en especies sensibles como rayas, cuyas características biológicas, incluyendo lenta reproducción y maduración tardía, las vuelven particularmente vulnerables a presiones derivadas de actividades socioeconómicas que predominan en la región (ej. pesca artesanal y tráfico marítimo). Definir el rango de distribución de las especies permite entender amenazas específicas, y por lo tanto, planificar y ejecutar acciones de manejo. Una vez confirmada la identificación de la especie en Galápagos, recomendamos impulsar investigación multidisciplinaria para llenar vacíos de información y tomar medidas acertadas de conservación. Como resultado final se elaboró una guía ecológica de *Rhinoptera steindachneri* con contenido importante recaudado durante este proyecto, útil

para la educación ambiental y uso como método de conocimiento, monitoreo e identificación de la especie local.

Palabras clave: *Rhinoptera steindachneri*, Galápagos, raya dorada, confirmación molecular, análisis filogenético

ABSTRACT

The genus *Rhinoptera* (golden rays) is formed by eight formally recognized species. However, given the morphological similarity between them, their taxonomy has not yet been fully resolved. Previous studies in the Eastern Pacific (EP) suggest that what we know as *R. steindachneri* could be a species complex. Information for the golden ray in the Galapagos is limited. Although the literature indicates that, due to its location in the EP, it should be *R. steindachneri*, there is currently no morphological or molecular confirmation. The objective of this work was to confirm the species of the genus *Rhinoptera* observed in the Galapagos through a phylogenetic analysis using Maximum Likelihood. To achieve this, DNA was extracted, amplified (COI gene), and sequenced from samples from Galapagos (n=5) and Mexico (n=5), which were analyzed together with sequences of *R. steindachneri*, *R. brasiliensis*, *R. javanica*, *R. jayakari*, *R. bonasus*, and *R. marginata* obtained from GenBank. The phylogeny grouped the Galapagos samples with the only available sequence of *R. steindachneri* (support=42). In addition, it indicated a close relationship with *R. brasiliensis* and *R. marginata* (support=1). On the other hand, samples from Mexico clustered with *R. bonasus* samples from the Atlantic (support=97). These results confirm the presence of at least two species of *Rhinoptera* in the EP. Correct identification is crucial for sensitive species like rays, whose biological characteristics, including slow reproduction and late maturity, make them particularly vulnerable to pressures from socioeconomic activities prevalent in the region (e.g., artisanal fishing and maritime traffic). Defining the distribution range of species allows us to understand specific threats and, therefore, plan and implement management actions. Now that the identification of the species in the Galapagos is confirmed, we recommend promoting multidisciplinary research to fill information gaps and implement appropriate conservation measures. As a final result, an ecological guide of *Rhinoptera steindachneri* was elaborated

with important content collected during this project, useful for environmental education and use as a method of knowledge, monitoring and identification of the local species.

Key words: *Rhinoptera steindachneri*, Galapagos, cow-nosed ray, genetics, Mexico, phylogenetic analysis

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.....	5
ABSTRACT	7
INTRODUCCIÓN.....	11
OBJETIVO GENERAL	15
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
METODOLOGÍA	16
ÁREA DE ESTUDIO Y RECOLECCIÓN DE MUESTRAS DE RAYAS DORADAS	16
TRABAJO DE LABORATORIO	19
Extracción y cuantificación de ADN	19
Selección de primers y Amplificación mediante PCR.....	19
ANÁLISIS DE DATOS	20
Limpieza, ensamble y alineamiento de secuencias.....	20
Búsqueda de BLAST	21
Análisis filogenético	21
BÚSQUEDA DE LITERATURA	22
GUÍA INFORMATIVA	23
RESULTADOS.....	23
TRABAJO DE LABORATORIO	23
Edición y limpieza de secuencias	25
ANÁLISIS DE DATOS	26
Resultados de BLAST.....	26
Resultados Análisis filogenético.....	28
BÚSQUEDA DE LITERATURA	31
GUÍA INFORMATIVA	34
DISCUSIÓN.....	35
CONCLUSIÓN.....	39
REFERENCIAS	41
ANEXOS	46
ANEXO A: PCR de los primers Fish F1 y Fish R1 para las muestras SC00008, SC00010, SC00110, SC00114, SC00133.	46
ANEXO B: Elucipin de nuestra SC00114. Se observa una tonalidad amarillenta.....	47
ANEXO C: Mapa de distribución de <i>Rhinoptera steindachneri</i> y <i>Rhinoptera brasiliensis</i> . ..	47
ANEXO D: Clasificación de muestreo de rayas doradas presentes en Galápagos.	48

ÍNDICE FIGURAS

Figura 1. Mapa de las zonas de muestreo de <i>Rhinoptera</i> usadas en este estudio.	17
Figura 2. Fotografía de ejemplo capturada por un dron durante una expedición de muestreo de la especie <i>Rhinoptera steindachneri</i>	18
Figura 3. Resultados de las amplificaciones usando tres combinaciones de primers: a). Fish F1/R1, b). Fish F1/R2 y c). Fish F2/R1.....	25
Figura 4. PCR con primers Fish F1 y Fish R1. Muestras 5903, 5915, 5922, 5963, 6009.	25
Figura 5. Árbol Filogenético del género <i>Rhinoptera</i>	30
Figura 6. Portada de la guía + código QR con la información ecológica de la especie <i>Rhinoptera steindachneri</i> de las islas Galápagos.	34

ÍNDICE TABLAS

Tabla 1. Detalle de las muestras de rayas doradas de Galápagos y México procesadas en este estudio	16
Tabla 2. Condiciones de Master mix.....	20
Tabla 3. Condiciones de termociclado para la amplificación del gen COI.....	20
Tabla 4. Cuantificación de ADN.....	24
Tabla 5. Resultados de Blast NCBI con las primeras tres coincidencias de las muestras de Galápagos y México.....	26
Tabla 6. Secuencias extraídas de especies cercanas y grupo externo del género <i>Rhinoptera</i> de la base de datos pública de NCBI.....	28
Tabla 7. Resultados de búsqueda de literatura de <i>Rhinoptera steindachneri</i>	32

INTRODUCCIÓN

El género *Rhinoptera* está conformado por ocho especies formalmente descritas; *Rhinoptera javanica* (Muller & HBeble, 1841), *Rhinoptera jayakari* (Boulenger, 1895), *Rhinoptera marginata* (Geoffroy Saint.Hilaire, 1817), *Rhinoptera peli* (Bleeker, 1863), *Rhinoptera neglecta* (Ogilby, 1912), *Rhinoptera bonasus* (Mitchill, 1815), *Rhinoptera brasiliensis* (Muller, 1836) y *Rhinoptera steindachneri* (Evermann & Jenkins, 1891); (Last *et al.* 2016). Estas tres últimas se distribuyen en los alrededores del continente americano. Por un lado *R. steindachneri* habita en el Océano Pacífico, mientras que las otras dos se distribuyen en el océano Atlántico occidental (Last *et al.* 2016).

Morfológicamente todas estas especies son similares, generando confusiones taxonómicas en todo el género *Rhinoptera*. Por ejemplo, estudios científicos confirman las similitudes físicas entre *R. bonasus* y *R. brasiliensis*. Sin embargo, aunque comparten zonas de distribución (Palacios-Barreto *et al.*, 2023), se trata de especies genéticamente separadas. Además, características menos obvias como el número de filas de placas dentales se han identificado como característica distintiva, presentando *R. bonasus* de 5 a 15 y *R. brasiliensis* de 7 a 13 (Jones *et al.*, 2017).

Un estudio reciente, elaborado por Jones *et al* (2017), centrado en las diferencias morfológicas, distribución e identificación de *R. brasiliensis* en comparación con *R. bonasus*, incluyó 21 muestras de *R. steindachneri*. Todas las muestras fueron tomadas en Mazatlán, Sinaloa, México, y al ser la única especie en esta zona de distribución, se asumió directamente como *R. steindachneri*. Este estudio dio resultados inesperados clasificando estas muestras en dos grupos. De los 25 haplotipos detectados en total, cuatro pertenecen a *R. steindachneri*, agrupados en dos grupos: dos haplotipos compartidos junto con *R. bonasus* y los otros dos haplotipos con *R. brasiliensis* (Jones *et al.*, 2017). Estos resultados, junto con investigaciones

previas de Sandoval-Castillo y Rocha-Olivares (2011) coinciden que dentro de la especie *Rhinoptera steindachneri* puede haber una especie críptica.

Las rayas doradas (*Rhinoptera steindachneri*), también conocidas como Raya nariz de vaca del Pacífico se caracterizan por su tonalidad marrón oscuro en la zona dorsal, con un color más pálido en la zona de la cabeza, una superficie ventral color blanca, y aletas pectorales externas que en ocasiones se tornan oscuras. Estas rayas se encuentran distribuidas por el Pacífico oriental central y sudoriental, abarcando desde el norte de México hasta el norte de Perú, e incluyendo el Golfo de California y las Islas Galápagos, prefiriendo aguas templadas y tropicales, con profundidades mayores a 30 metros (Last et al. 2016).

Las rayas doradas pueden alcanzar hasta 104 cm de ancho del disco (AD) en adultos; las hembras maduran a los 70-72 cm AD y los machos maduran a los 69-70 cm AD; al nacer rondan entre los 39-43 cm AD (Burgos-Vásquez et al, 2018, Last et al, 2016). Las rayas doradas tienen un periodo de gestación de 10 a 12 meses, dando a luz una sola cría (Last et al, 2016). Estas características vuelven a esta especie particularmente vulnerable ante las actividades antropogénicas, que pueden afectar a sus poblaciones y dificultar su recuperación.

A lo largo del tiempo, la actividad pesquera no sostenible se ha convertido en una de las principales causantes de la pérdida de especies, y destrucción de ecosistemas marinos (Molina, 2008). La pesca, y sus efectos asociados, pueden llegar a modificar la composición de las comunidades marinas en diferentes ámbitos, alterar la cadena trófica, los grupos funcionales y la dinámica de las poblaciones tanto de las especies objetivo como de aquellas especies que son capturadas de forma incidental en las redes (Challenger, 2009). Los impactos negativos producidos por la intensa presión pesquera pueden llegar a superar la capacidad de recuperación poblacional de las especies, llevándolas incluso al riesgo de extinción (Challenger, 2009). Adicionalmente, un amplio porcentaje de las especies que habitan en el fondo del mar,

incluyendo a la raya dorada, se desplazan de forma periódica hasta zonas costeras de aguas someras para dar a luz, siendo este periodo el más riesgoso ya que se vuelven altamente susceptibles a las redes de pesca artesanal y otros factores como la contaminación (Márquez-Farías & Blanco-Parra, 2006).

Las rayas y tiburones en diferentes partes del mundo son un importante recurso en la pesca. En México, por ejemplo, el 80% de la captura de pesca artesanal corresponde a la raya *Rhinoptera Steindachneri* (Saldaña-Ruiz et al. 2016). La captura de esta especie se lleva a cabo mediante la utilización de redes de pesca y anzuelos ribereños, actividades que son consideradas importantes en el sector comercial en la región (Guevara et al., 2014). Durante el periodo de 1997 al 2014, las capturas de rayas anualmente fueron en promedio de 3000 t por año (Saldaña-Ruiz et al. 2016). Sin embargo, se ha observado un incremento en la cantidad de capturas de rayas en el Golfo de California desde el año 2012 (Saldaña-Ruiz et al. 2016). Esta situación se debe a que *R. steindachneri*, y otras rayas de la región tiene una gran importancia socioeconómica en esta zona del país (Márquez-Farías, 2006). Asimismo, se han llevado a cabo esfuerzos para la conservación de rayas, incluyendo la raya dorada. Por ejemplo, se han priorizados zonas de investigación y conservación de batoideos (Salomón-Aguilar, 2015) y se ha trabajado en la implementación de épocas (desde inicio de mayo hasta fines de julio) y zonas de veda para la captura de diferentes especies, incluidas las rayas dentro de la jurisdicción federal de los Estados Unidos Mexicanos (D.O.F, 2013).

La Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) categorizó a las rayas doradas como “casi amenazadas” tras su última evaluación en febrero del 2019, basada en la información existente para la especie (Pollom et al, 2020). Sin embargo, si bien en el ámbito internacional se dispone de una cantidad significativa de información sobre la raya dorada, se conoce muy poco sobre esta especie en otras regiones a lo largo de su distribución, incluyendo las Islas Galápagos. Mientras países como México ha contribuido con información detallada

sobre las amenazas que enfrenta la especie, especialmente aquellas que son derivadas de la actividad pesquera, la literatura es limitada o inexistente en otras regiones. Se espera que proyectos de investigación como éste, brinden información para esta especie más allá de México, y permita entender mejor las necesidades de conservación de la misma.

Este proyecto se desarrolla en las islas Galápagos, que forman parte del área de distribución de la raya *R. steindachneri*. El Archipiélago de Galápagos es considerado un hotspot de biodiversidad, que mantiene una diversidad endémica (única de las islas) y nativa gracias a su aislamiento y posición geográfica. Las islas reciben influencia de cuatro importantes corrientes marinas: la corriente de Cromwell, la corriente de Panamá, la corriente Ecuatorial del Sur y la corriente de Humboldt, que, tras su intersección, generan una mezcla de diferentes temperaturas que favorecen a la diversidad y disponibilidad de alimento para una gran diversidad de especies (Green, 2012). Galápagos está conformado por trece islas grandes, de las cuales cuatro están pobladas: San Cristóbal, Santa Cruz, Floreana e Isabela, y cientos de islotes pequeños a sus alrededores (EPI-Ecuador, 2022). Este archipiélago ha sido reconocido a nivel mundial, y ha sido proclamado como Patrimonio Natural de la Humanidad, reconocimiento que se amplió en 1984, cuando fueron designadas Reserva de la Biosfera por la UNESCO (EPI-Ecuador, 2022). En el año 2001 recibieron la distinción de Sitio Ramsar, destacando su importancia mundial (EPI-Ecuador, 2022). La economía del Archipiélago de Galápagos ha sido cambiante y ha crecido de forma acelerada en las últimas décadas. Actualmente, alrededor del 80% de la economía local depende directa e indirectamente de la actividad turística, beneficiando a la comunidad galapagueña (EPI-Ecuador, 2022). Varias especies de tiburones y rayas, incluyendo la raya dorada, pertenecen a la rica biodiversidad que poseen las islas, y forman parte como atractivo turístico de visita en las islas para disfrutar de la naturaleza y vida silvestre que habita en el lugar (EPI-Ecuador, 2022).

Considerando que, hasta el momento, existen dudas sobre la taxonomía de *R. steindachneri*, y sospechas de diversidad críptica en el Pacífico Oriental, es indispensable confirmar la especie observada dentro de Galápagos, para así entender su estado y necesidades de conservación. El objetivo principal de este estudio es confirmar en base a herramientas moleculares la identidad de especie del género *Rhinoptera*, y preparar material didáctico para divulgar el conocimiento sobre la ecología e importancia de la especie del género descrita dentro de las Islas Galápagos. Para ello se plantean tres objetivos específicos: (1) Confirmar en base a herramientas moleculares la identidad del género de la especie de raya dorada en dos localidades del Pacífico, (2) Realizar una revisión exhaustiva de la literatura para identificar los vacíos de conocimientos existentes sobre la *Rhinoptera steindachneri* en las islas Galápagos y (3) Diseñar una guía con la información ecológica y la importancia de las rayas doradas dentro de Galápagos como una herramienta de comunicación ambiental para los guías turísticos.

OBJETIVO GENERAL

Confirmar en base a herramientas moleculares la identidad de especie del género *Rhinoptera* presente en Galápagos, y preparar material didáctico para divulgar el conocimiento sobre la ecología e importancia de la especie identificada.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Confirmar en base a herramientas moleculares la identidad de la especie de raya dorada del género *Rhinoptera* que se encuentra en las Islas Galápagos y México.
2. Realizar una revisión exhaustiva de la literatura para identificar los vacíos de conocimientos existentes sobre la especie identificada en Galápagos.
3. Diseñar una guía con la información ecológica y la importancia de las rayas doradas dentro de Galápagos como una herramienta de comunicación ambiental para la localidad.

METODOLOGÍA

ÁREA DE ESTUDIO Y RECOLECCIÓN DE MUESTRAS DE TEJIDO DE RAYAS DORADAS

La investigación se llevó a cabo con muestras de México y las Islas Galápagos. En México, las muestras se obtuvieron en el Sur Playa Novillero (n=2), en Playa Puerta de Palapares (n=1), en el Sur de Mazatlán (n=1) y al Norte de San Blas (n=1) bajo el permiso de Pesca de Fomento No. PPF/DGOPA-238-13 (Ver Tabla 1, Figura 1). En las islas Galápagos, las muestras fueron colectadas en dos islas: isla Isabela (n=3), en la zona conocida como “El Finado” y en la Isla San Cristóbal (n=2), en el sector del Muelle Acuario bajo el permiso MAE-DNB-CM-2016-0041 del Ministerio del Ambiente, Agua y Transición Ecológica, respectivamente (Figura 1).

Tabla 1. Detalle de las muestras de rayas doradas de Galápagos y México procesadas en este estudio

ID de la muestra	Fecha	Isla	Lugar
SC00110	26/5/2019	Isabela	El Finado
SC00114	25/5/2019	Isabela	El Finado
SC00133	29/5/2019	Isabela	El Finado (sitio de snorkel)
SC00008	13/2/2019	San Cristóbal	Puerto Baquerizo moreno, Muelle Acuario
SC00010	13/2/2019	San Cristóbal	Puerto Baquerizo moreno, Muelle Acuario
5903	05/7/2014	México	Playa puerta de Palapares
5915	05/7/2014	México	Sur Playa Novillero
5922	03/7/2014	México	Sur Mazatlan
5963	05/7/2014	México	Sur Playa Novillero
6009	06/7/2014	México	Norte San Blas

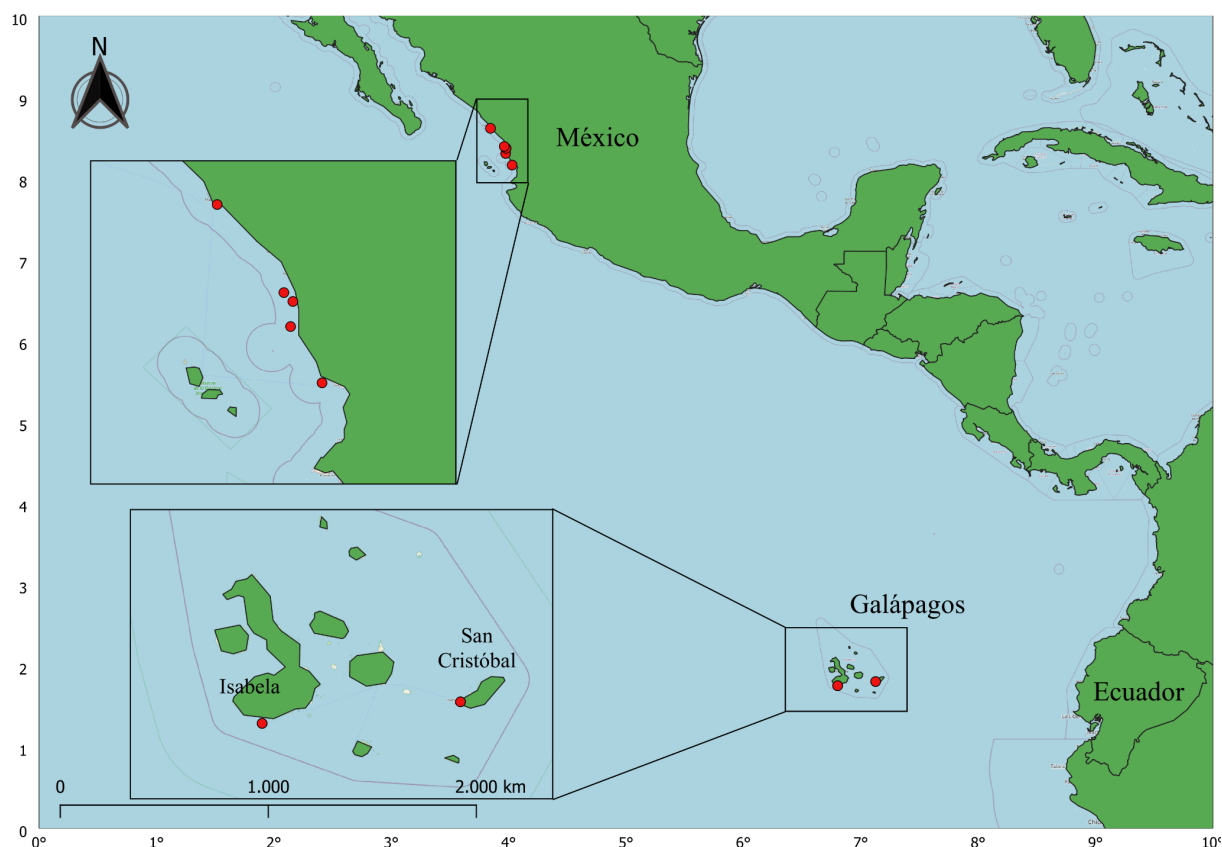


Figura 1. Mapa de las zonas de muestreo de *Rhinoptera* usadas en este estudio. Las zonas de muestreo están identificadas mediante círculos rojos. En Galápagos, situados en la isla de Puerto Villamil (Isabela), en la zona denominada “El Finado”, y en la isla de Puerto Baquerizo Moreno (San Cristóbal) sector conocido como “Muelle Acuario”. En México, con cuatro localidades; dos en el Sur Playa Novillero, una en Playa Puerta de Palapares, una en el Sur de Mazatlán y una al Norte de San Blas.

Para la colecta de las muestras en las islas Galápagos, con el propósito de localizar a las rayas doradas, se realizó un reconocimiento de la zona con ayuda de un dron (Figura 2). Así se obtuvo la ubicación exacta y se planificó el muestreo. Posteriormente, para las rayas de tamaño mediano (mayor a 44 cm de ancho de disco) se recolectó las muestras usando una vara hawaiana y una punta de biposia. En el caso de las muestras de rayas de tamaño pequeño o juveniles (menor de 43 cm de ancho de disco) se preparó una red conocida como “red chinchorro” con el objetivo de confinar a las rayas a lo largo de la zona de manglar, y una vez que las rayas se

encontraban dentro de la red chinchorro, se procedió a capturarlas para colocarlas en una tina plástica. Finalmente, cada individuo fue colocado sobre el ictiómetro para medir distintas características morfológicas, tales como: su longitud total, longitud del disco, ancho del disco (AD), longitud del hocico, distancia entre espiráculos y distancia de los ojos. Además, se registró el peso, se determinó el sexo de cada ejemplar (hembra o macho) y se tomó las muestras de tejido para realizar los análisis correspondientes. Las muestras fueron almacenadas en alcohol al 96% y trasladadas al laboratorio, donde se refrigeraron a 4°C con el fin de conservarlas. Las muestras de México se obtuvieron de by-catch de pesca de arrastre.



Figura 2. Fotografía de ejemplo capturada por un dron durante una expedición de muestreo, empleada para identificar la presencia de la especie *Rhinoptera steindachneri* y planificar el acercamiento para la toma de muestras. Fotografía: Daniel Armijos

TRABAJO DE LABORATORIO

Extracción y cuantificación de ADN

El trabajo de laboratorio se llevó a cabo en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Universidad San Francisco de Quito. Para la extracción de ADN de las 10 muestras seleccionadas, se aplicó el protocolo detallado en el Kit DNeasy Blood & Tissue (QIAGEN, 2013). Las muestras se eluyeron en 60 µl en lugar de 100 µl para poder obtener una mayor concentración de ADN. Después de la extracción, se evaluó la calidad del ADN utilizando el equipo Nanodrop 2000 (Thermo Fisher Scientific, 2015). Posteriormente se verificó la integridad del ADN mediante electroforesis con las condiciones detalladas en la tabla 3, en un gel de agarosa al 1,5%. (p/v). Durante el proceso de electroforesis se realizó a 100 voltios (V) durante 30 minutos (min). Los resultados de electroforesis se observaron en el fotodocumentador Gel Doc XR+ (BIO-RAD). Finalmente, las muestras fueron enviadas a la compañía Macrogen Inc (Corea) para su respectivo secuenciamiento.

Selección de primers y Amplificación mediante PCR

En este estudio, se amplificó el gen Citocromo Oxidasa I (COI) mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), empleando dos pares de primers: Fish F1 5'TCAACCAACCACAAAGACATTGGCAC3'; Fish R 1 5'-TAGACTTCTGGGTGGCCAAAGAATCA-3'; y Fish F2 5'-TCGACTAATCATAAAGATATCGGCAC-3'; Fish R2 5'-ACTTCAGGGTGACCGAAGAATCAGAA-3' (Ward et al., 2005). Para las PCRs se utilizaron tres combinaciones de primers; (1) Fish F1/R1, (2) Fish F1/R2 y (3) Fish F2/R1. Para la elaboración del Master Mix, se emplearon los reactivos detallados en la Tabla 2 en un volumen final de 30 µl. El proceso de termociclador se llevó a cabo utilizando el termociclador SimpliAmp™ (Thermo Fisher Scientific) y siguiendo el protocolo detallado en la Tabla 3.

Tabla 2. Condiciones de Master mix

Master mix			
Reactivos	Conc. Inicial	Conc. Final	1 Reacción (µl)
H ₂ O	-	-	18.5
Buffer	10X	1X	3
BSA	1 mg/ml	0.04 mg/ml	1.2
MgCl ₂	50 mM	2.5 mM	1.5
dNTPs	10 mM	0.2 mM	0.6
Forward Fish F1	10 µM	0.5 µM	1.5
Reverse Fish R1	10 µM	0.5 µM	1.5
Taq	5 U/µl	1 U	0.2
DNA	-	-	2
		Vol _f :	30

Tabla 3. Condiciones de termociclado para la amplificación del gen COI

Termociclado			
Paso	Temperatura	Tiempo	Ciclos
Denaturación inicial	95°C	2 min	
Denaturación	94°C	30 s	35 ciclos
Annealing	54°C	30 min	
Extensión	72°C	1 min	
Extensión final	72°C	10 min.	

ANÁLISIS DE DATOS

Limpieza, ensamble y alineamiento de secuencias

Las secuencias fueron sometidas a una limpieza, ensamblaje y alineamiento utilizando la herramienta de Geneious Prime versión 2025.0.3 (Geneious Prime, 2024). La cadena de ADN es una cadena doble, formada de dos hilos de ADN. Como primer paso se ensamblaron las dos cadenas (forward y reverse) para formar una cadena consenso, usando la opción Align/Assemble y la herramienta de De Novo Assemble con una sensibilidad alta y el ensamblador geneious. Para la limpieza de las secuencias utilizamos la sección de “permitir edición” y borramos la sección de mala calidad, en los extremos de la secuencia ensambladas.

Como tercer paso, se efectuó una inspección manual de las secuencias consenso para verificar si hay discrepancias. Durante este proceso, se supervisó la calidad de los nucleótidos (A, T, C y G) para realizar correcciones o aprobar los resultados obtenidos mediante el software.

Búsqueda de BLAST

Usando la secuencia consenso de cada individuo se realizó una búsqueda en la plataforma Nucleotide BLAST+ 2.15.0 (2023). Blast es una herramienta diseñada para identificar similitudes de secuencias entre los nucleótidos, proteínas o genomas completos mediante su comparación con bases de datos especializadas. Este programa identifica y analiza las coincidencias encontradas generando una puntuación que refleja el grado de similitud, presentando un listado con los resultados más relevantes (Wheeler & Bhagwat, 2007). De los cuales, para este estudio se identificaron las primeras tres secuencias biológicas de cada individuo que obtuvieron el mayor porcentaje de cobertura de la consulta y porcentaje de identidad.

Análisis filogenético

Para construir el árbol filogenético se usaron secuencias de seis especies del género *Rhinoptera* obtenidas de la página National Center For Biotechnology Information (NCBI). Dentro del NCBI, se utilizó la base de datos “nucleótidos” para la búsqueda de las secuencias de cada individuo y se las descargó en formato FASTA.

Las secuencias descargadas fueron importadas al software Geneious Prime (versión 2025.0.3). Posteriormente, se realizó un nuevo alineamiento con todos los archivos descargados de NCBI de las secuencias de Galápagos y México seleccionando la opción Align/Assamble -> Multiple Align y en la ventana elegimos “Create alignment of all sequences (Keeps existing gaps)”.

Se realizó una modificación del alineamiento, eliminando los extremos de las secuencias más largas para conseguir un alineamiento con todas las secuencias del mismo tamaño. Finalmente,

este alineamiento se exportó en formato MEGA alignment (*.meg) . Con esta información, se prosiguió a correr el árbol filogenético en el software Molecular Evolutionary Genetics Analysis versión 12 (MEGA X12), (Kumar et al., 2018). La filogenia se construyó usando la opción Maximum Likelihood como método estadístico, con 1000 réplicas de bootstrap. Se usó el modelo General Time Reversible, con la opción Gamma Distributed With Invariant Sites (G+I). Las demás opciones se mantuvieron como default del programa.

BÚSQUEDA DE LITERATURA

Para obtener mayor información sobre esta especie se dio paso a una búsqueda exhaustiva a nivel local y global, determinando aquellos aspectos que se desean conocer para esta investigación, tales como; la ecología de la raya dorada *R. steindachneri*, su distribución, taxonomía, amenazas, conservación, estado de conservación e información genética. La búsqueda de la literatura se realizó a través de las páginas web: ProQuest, Google y Google Académico consultando en fuentes confiables. Además, en repositorios que se enfocan en estudios de la biodiversidad como la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN). También, en libros específicos sobre Galápagos y de otras partes del mundo. De esta forma se pudo obtener información más detallada y confiable sobre la raya dorada.

Para una búsqueda más efectiva, se utilizó el nombre científico de la especie (*Rhinoptera steindachneri*) adjuntando palabras claves como; diversidad genética, ADN, Galápagos, rayas doradas, rayas nariz de vaca, comportamiento, conservación, distribución, ecología, que vayan de acuerdo a la investigación. Se identificó literatura de buena calidad, excluyendo a aquellas fuentes desactualizadas o poco confiables, organizándose en una tabla de resultados que facilitó el análisis e identificación de información.

GUÍA INFORMATIVA

Con la construcción de esta guía, se busca contribuir al conocimiento y conservación de la raya dorada dentro del territorio Galapagueño, informando sobre su ecología, amenazas a las que se enfrenta y el papel que toma dentro de los ecosistemas marinos. Se considera que es fundamental que la comunidad conozca, aprenda e intervenga por esta especie, de ser necesario. Además, con esta guía, se espera ser una fuente de inspiración para la planificación de nuevas investigaciones para la conservación de la raya dorada de Galápagos.

La elaboración de la guía incluye información sobre su zona de distribución, talla, estado de conservación, características físicas, amenazas, conservación datos curiosos y la relevancia de las rayas doradas en el Archipiélago de Galápagos. Se desarrolló en la plataforma Canva, empleando datos obtenidos de la búsqueda de literatura. Para el uso de fotografías se mantuvo comunicación con personas que tengan mayor acceso a estas imágenes, como; guías, buzos, personas que practican snorkel, la USFQ y GSC.

RESULTADOS

TRABAJO DE LABORATORIO

Durante el trabajo de laboratorio, se logró extraer 10 muestras con calidad que variaba entre 4 a 89 ng/ul lo que indica buena calidad (Tabla. 4). Los resultados obtenidos de la PCR con diferentes combinaciones de primers utilizadas (Fish F1/R1, Fish F1/R2 y Fish F2/R1) evidencian que las muestras amplificaron en todas las combinaciones, sin embargo, en Fish F1/R2 y Fish F2/R1 fueron inespecíficas (Figura 3). Por lo tanto, la combinación Fish F1/R1 fue la que se usó para el secuenciamiento. Para las muestras de Galápagos, cuatro de las cinco muestras se amplificaron en el primer intento. Sin embargo, la muestra SC00114 tuvo que ser diluída para conseguir su amplificación en el segundo intento. En las muestras de México detalladas en la figura 4, todas se amplificaron exitosamente.

Tabla 4. Cuantificación de ADN en Nanodrop 2000TM (Thermo Fisher Scientific)

#	Sample ID	ADN (ng/ul)	260/208	260/230
1	SC00008	38,9	1,84	0,80
2	SC00010	61,8	1,77	1,60
3	SC00110	35,3	1,91	0,47
4	SC00114*	12	2,40	1,10
5	SC00133	56,7	1,79	1,18
6	5903	13,3	0,69	0,32
7	5915	4,4	1,42	0,17
8	5922	89,8	1,83	1,42
9	5963	19,9	1,56	0,36
10	6009	27,6	1,52	0,42

* La muestra SC00114 presenta un color diferente, y además de cuantificar la extracción inicial, se llevó a cabo una cuantificación de la dilución para realizar la PCR.

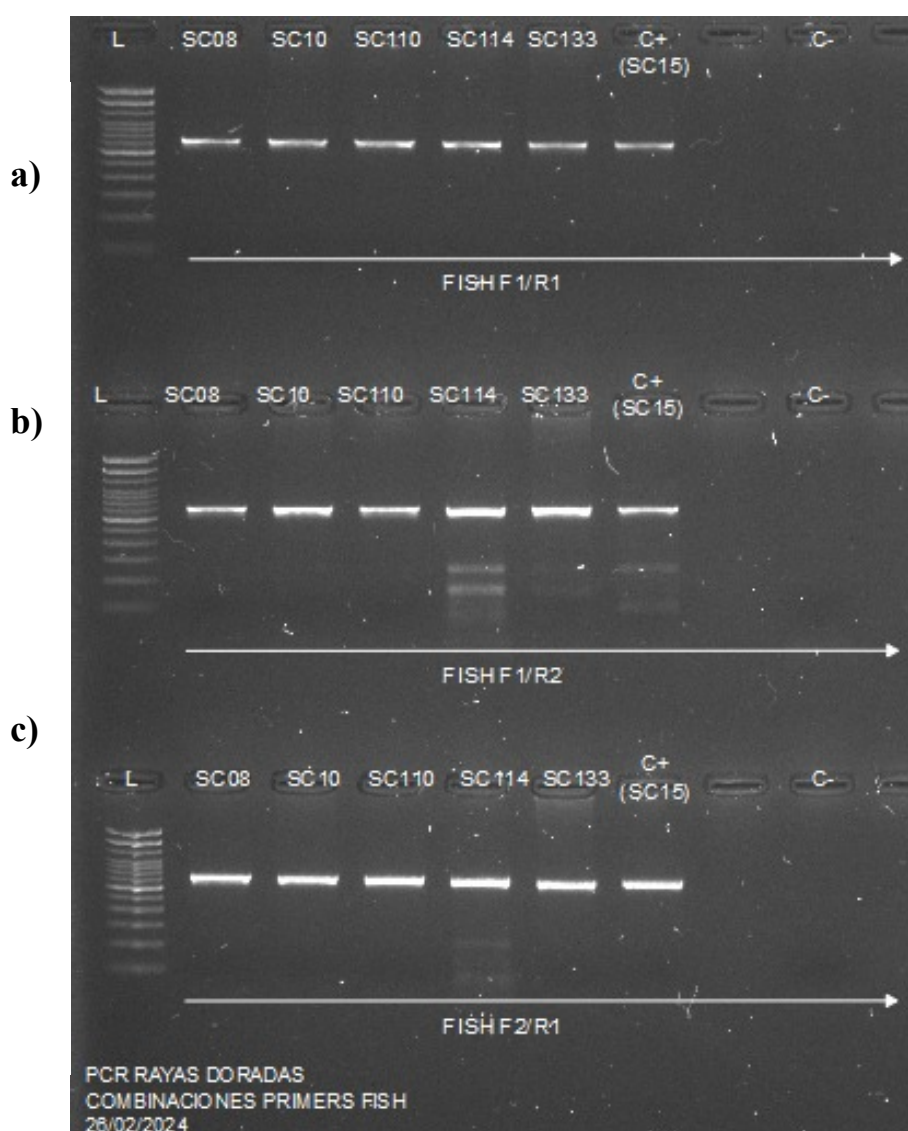


Figura 3. Resultados de las amplificaciones usando tres combinaciones de primers: a). Fish F1/R1, b). Fish F1/R2 y c). Fish F2/R1. El control positivo SC15 es una muestra de *A. ocellatus*, previamente amplificada por Pamela Vega en septiembre de 2019. Las PCR fueron corridas en un gel de agarosa a 1,5 % (p/v).

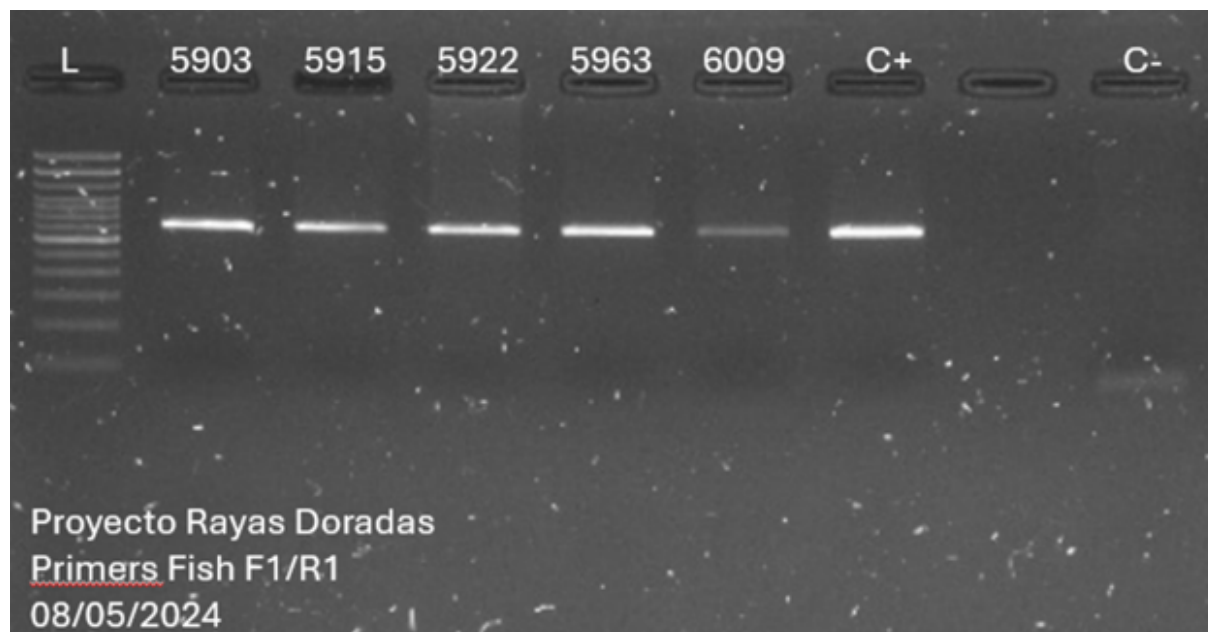


Figura 4. PCR con primers Fish F1 y Fish R1 en un gel de agarosa 1,5 % (p/v). Muestras 5903, 5915, 5922, 5963, 6009 amplificación exitosa de todas las muestras. El control positivo SC08, muestra previamente amplificada en febrero de 2024. Las bandas se encuentran dentro del tamaño esperado (652 pb).

Edición y limpieza de secuencias

Las 10 secuencias de *Rhinoptera* tanto de Galápagos como México fueron secuenciadas de manera exitosa utilizando el gen marcador COI. Inicialmente todas las muestras presentaron un tamaño de alrededor 1.500 pares de bases. No se descartó ninguna secuencia ya que todas presentaban buena calidad. Tras el proceso de limpieza y edición, las secuencias obtenidas de Galápagos terminaron entre 650 a 680 pares de bases y las muestras de México entre 670 a 690 pares de bases.

ANÁLISIS DE DATOS

Resultados de BLAST

Después de hacer una búsqueda en la base de datos pública, los individuos SC00113, SC00114, SC00110, SC00010 y SC00008, indicaron que existe un nivel de correspondencia iguales con dos especies cercanas: *Rhinoptera brasiliensis* y *Rhinoptera steindachneri*. El porcentaje de identidad (por. Ident. %) es de 99,84% y 99,85%, con una cobertura de consulta (porcentaje de bases idénticas al genoma de referencia) de 95% a 100%. Para los individuos 5903, 5915, 5922, 5963 y 6009, presentaron correspondencia con una especie cercana; *Rhinoptera bonasus*, con un porcentaje de identidad (por. Ident. %) de 98,10% a 98,66% y una cobertura de consulta de 95% a 100% (Tabla. 5).

Tabla 5. Resultados de Blast NCBI con las primeras tres coincidencias de las muestras de Galápagos y México

Individuo	Nº	Nombre científico	Max. puntaje	Cubierta de consulta	Por. Ident %	Acc. len	Accces
SC00133	1	<i>Rhinoptera brasiliensis</i>	1229	100%	99,85%	17759	NC_068668.1
	2	<i>Rhinoptera steindachneri</i>	1229	100%	99,85%	11967	JN184076.1
	3	<i>Rhinoptera brasiliensis</i>	1199	98%	99,85%	652	JX124888.1
SC00114	1	<i>Rhinoptera brasiliensis</i>	1157	100%	99,84%	17759	NC_068668.1
	2	<i>Rhinoptera steindachneri</i>	1157	100%	99,84%	11967	JN184076.1
	3	<i>Rhinoptera brasiliensis</i>	1133	98%	99,84%	652	JX124888.1
SC00110	1	<i>Rhinoptera brasiliensis</i>	1249	99%	99,85%	17759	NC_068668.1
	2	<i>Rhinoptera steindachneri</i>	1249	99%	99,85%	11967	JN184076.1
	3	<i>Rhinoptera brasiliensis</i>	1199	95%	99,85%	652	JX124888.1

SC00010	1	<i>Rhinoptera brasiliensis</i>	1251	100%	99,85%	17759	NC_068668.1
	2	<i>Rhinoptera steindachneri</i>	1251	100%	99,85%	11967	JN184076.1
	3	<i>Rhinoptera brasiliensis</i>	1199	95%	99,85%	652	JX124888.1
SC00008	1	<i>Rhinoptera brasiliensis</i>	1227	100%	99,85%	17759	NC_068668.1
	2	<i>Rhinoptera steindachneri</i>	1227	100%	99,85%	11967	JN184076.1
	3	<i>Rhinoptera brasiliensis</i>	1199	98%	99,85%	652	JX124888.1
5903	1	<i>Rhinoptera bonasus</i>	1195	100%	98,66%	15732	KX151652.1
	2	<i>Rhinoptera bonasus</i>	1179	100%	98,22%	18365	NC_082999.1
	3	<i>Rhinoptera bonasus</i>	1166	98%	98,63%	658	KF245596.1
5915	1	<i>Rhinoptera bonasus</i>	1206	100%	98,68%	15732	KX151652.1
	2	<i>Rhinoptera bonasus</i>	1190	100%	98,24%	18365	NC_082999.1
	3	<i>Rhinoptera bonasus</i>	1166	97%	98,63%	658	KF245596.1
5922	1	<i>Rhinoptera bonasus</i>	1188	100%	98,51%	15732	KX151652.1
	2	<i>Rhinoptera bonasus</i>	1171	100%	98,07%	18365	NC_082999.1
	3	<i>Rhinoptera bonasus</i>	1160	98%	98,48%	658	KF245596.1
5963	1	<i>Rhinoptera bonasus</i>	1177	100%	98,64%	15732	KX151652.1
	2	<i>Rhinoptera bonasus</i>	1160	100%	98,19%	18365	NC_082999.1
	3	<i>Rhinoptera bonasus</i>	1158	98%	98,62%	658	KF245596.1
6009	1	<i>Rhinoptera bonasus</i>	1212	99%	98,54%	15732	KX151652.1
	2	<i>Rhinoptera bonasus</i>	1195	99%	98,10%	18365	NC_082999.1
	3	<i>Rhinoptera bonasus</i>	1166	95%	98,63%	658	KF245596.1

Resultados Análisis filogenético

Como resultado de la búsqueda de secuencias en NCBI, se encontró para especies cercanas cinco muestras de *R. bonasus*, *R. javanica*, *R. jayakari*, *R. brasiliensis*, dos muestras de *R. marginata*, una muestra de *R. steindachneri* y como grupo externo se incluyó dos muestras de *Myliobatis californica* (Tabla 6). El árbol filogenético está conformado por tres clados principales; el primer clado con alto soporte (bootstrap = 1) incluye las cuatro muestras de *R. javanica*. El segundo clado, también con alto soporte (bootstrap = 0,97) agrupó a la especie *R. bonasus* y a las muestras de México incluidas en este estudio. El tercer clado, con alto soporte (bootstrap = 0,99) se dividió en dos subclados: en el primero, con un alto soporte bootstrap = 0,99) se observan todas las muestras de *R. jayakari* y una muestra de *R. javanica*. Ésta ha sido previamente reportada como una mala identificación, y en realidad se trata de *R. jayakari*; mientras que el segundo subclado, con un alto soporte (bootstrap = 1) está conformado por tres grupos con soporte variable. El primero agrupa a todas las muestras colectadas de Galápagos con la única muestra disponible de *R. steindachneri* (bootstrap 0,42), el segundo agrupa a todas las muestras de *R. brasiliensis* (bootstrap 0,48), y el último agrupa a todas las muestras de *R. marginata* (bootstrap 0,95) (Figura 5).

Tabla 6. Secuencias extraídas de especies cercanas y grupo externo del género *Rhinoptera* de la base de datos pública de NCBI

Nº	Especie	Acceso NCBI	Localidad	Referencia
1	<i>Rhinoptera steindachneri</i>	JN184076.1	-	Aschliman, N.C.
2	<i>Rhinoptera bonasus</i>	MK085747.1, MT455399.1, KF245596.1, MT455020.1, MT455227.1	USA	Ferrette, B.L.S., Domingues, R.R., Rotundo, M.M., Miranda, M.P., Bunholi, I.V., De Biasi, J.B., Oliveira, C., Foresti, F. and Mendonca, F.F. Aguilar, R., Ogburn, M.B., Weigt, L.A., Driskell, A.C., Macdonald, K. and Hines, A.H. Bade, L.M., Pilgrim, E.M., Balakrishnan, C.N., McRae, S.B. and Luczkovich, J.J.
7	<i>Myliobatis californica</i>	GU440417.1, KF317725.1	USA	Hastings, P. and Burton, R. hiquillo, K.L., Bravo, N. and Crow, K.D.
9	<i>Rhinoptera javanica</i>	MH235702.1, MH235701.1, MG774923.1, MG774927.1, JF494383.1	Myanmar, Malasia, South Africay	Segura-Garcia, I. and Yain Tun, T. Mohd-Arshaad, W. and Jamaludin, N.-A. Steinke, D., Zemlak, T.S., Connell, A.D., Heemstra, P.C. and Hebert, P.D.N.
14	<i>Rhinoptera jayakari</i>	KM073015.1, KY574494.1, MG792120.1, MH841982.1, MH841998.1	Malaysia, India	Lim, K.C., Lim, P.E., Chong, V.C. and Loh, K.H. Musaliyarakam, N., Divaker, P.H., Shirke, S.S. and Ssasidharan, V. Mohd-Arshaad, W. and Jamaludin, N.-A. Das, S.A. and Haque, A.B.
19	<i>Rhinoptera marginata</i>	KY176594.1, KY176595.1	Turkey: Gulf of Iskenderun	Yokes, M.B.
22	<i>Rhinoptera brasiliensis</i>	JX124888.1, MK085723.1, MK085724.1, MK085725.1, MK085731.1	Brazil: Sao Paulo, Bacia Oceanica Santos	Ribeiro, A.D.E.O., Oliveira, C. and Ribeiro, A.D. Ferrette, B.L.S., Domingues, R.R., Rotundo, M.M., Miranda, M.P., Bunholi, I.V., De Biasi, J.B., Oliveira, C., Foresti, F. and Mendonca, F.F.

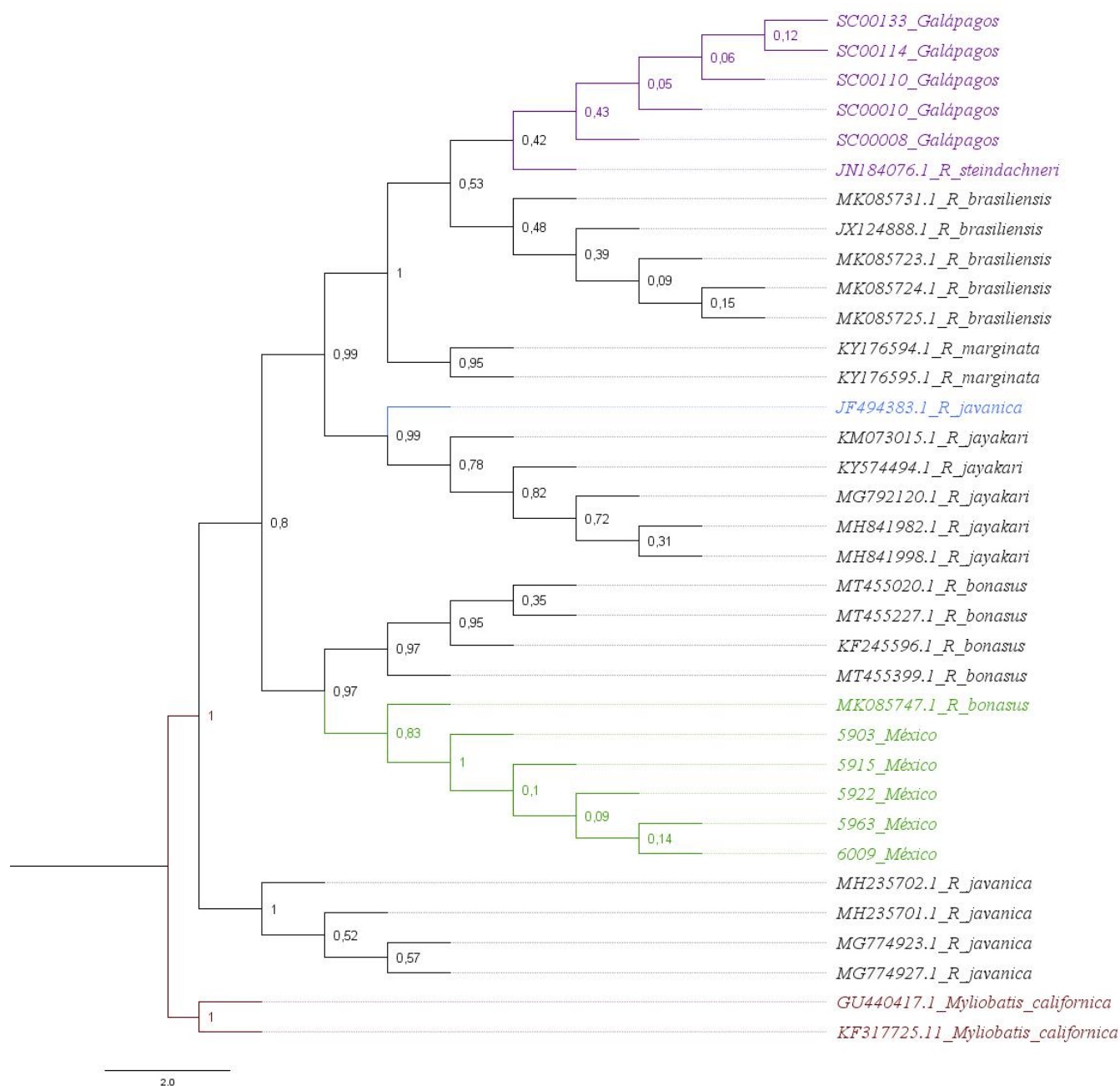


Figura 5. Árbol Filogenético del género *Rhinoptera* con el marcador COI. El color morado indica las muestras de Galápagos agrupadas con la única muestra de *R. steindachneri*. En color verde se encuentran las muestras de México con una amplia relación con *R. bonasus*. El azul indica la mala identificación de la muestra de *R. javanica* agrupada con *R. jakari* y la raíz del árbol en color celeste representa la especie *Myliobatis californica* como grupo externo.

BÚSQUEDA DE LITERATURA

Durante la búsqueda, la denominación local de la especie como “raya dorada” dentro de Galápagos fue una limitante para la obtención de información. Por esta razón, la búsqueda se realizó utilizando la diversidad de nombres comunes que se presentaron, seguido del nombre científico para una información más extensa a nivel global.

Como resultado se obtuvieron 10 hallazgos claves entre documentos y páginas webs. La Tabla 7 donde detalla los hallazgos más significativos que fueron útiles para esta investigación. En los estudios, se obtuvo información importante sobre su taxonomía, ecología, distribución, preferencia de hábitat, estrategias de conservación y sus principales amenazas. Se identificó que, a nivel global, la cantidad de estudios eran mayor y centradas en regiones especificadas como; México en el Golfo de California. Sin embargo, a nivel local, la información obtenida fue muy escasa, lo que resalta la necesidad de implementar nuevas investigaciones que nos permitan conocer más detalles sobre *Rhinoptera steindachneri* dentro de Galápagos. Fue posible encontrar una página confiable “Fundación Charles Darwin” que cuenta con una base de datos de las especies de Galápagos, pero esta información es general de la especie como; su taxonomía y estado de conservación. Tras esta búsqueda se notó la falta de información de otros datos importantes que detallen sus características principales, su identidad genética, amenazas y métodos de conservación específicos para esta especie. Fue posible encontrar otros sitios web con referencia a Galápagos, con un poco de información detallada sobre su periodo de gestación, alimentación, amenazas, y características físicas que no son confiables por su falta de referencias y/o por su autoría.

Tabla 7. Resultados de búsqueda de literatura de *Rhinoptera steindachneri*

Título	Autor(es)	Año de publicación	Hallazgos claves	Palabra clave	Área del estudio
<i>Rhinoptera steindachneri</i> Evermann & Jenkins, 1891	Fundación Charles Darwin	-	Base de datos de las especies de Galápagos: Información detallada sobre la taxonomía, dominio, reino, filo, clase, orden, familia, y género de la especie. Además, su estado de conservación está dentro de la Lista Roja de la UICN.	Raya Dorada de Galápagos	Galápagos
Rays of the World	Last, P., Naylor, G., Séret, B., White, W., de Carvalho, M., & Stehmann, M. (Eds.).	2016	Atlas pictórico de la diversidad de rayas en el mundo con información general sobre su identificación y distribución (incluye <i>R. steindachneri</i>).	Rayas	Global
Las rayas del Golfo de California. Sustentabilidad y Pesca Responsable en México, Evaluación y Manejo.	Márquez-Farías, J. F., & Blanco-Parra, M. P.	2006	Información clave sobre la biología de la especie, como; estrategias de vida, método de fertilización, hábitat y condiciones de preferencia, estados de vulnerabilidad y una división comercial de rayas dentro del territorio mexicano.	<i>Rhinoptera steindachneri</i>	California, México
Estrategia reproductiva de la raya nariz de vaca del Pacífico <i>Rhinoptera steindachneri</i> en el sur del Golfo de California.	Burgos-Vázquez, MI, Chávez-García, VE, Cruz-Escalona, VH, Navia, AF y Mejía-Falla, PA	2018	Destaca la vulnerabilidad de la especie debido a sus características biológicas y genera recomendaciones y/o estrategias para su conservación. Además, presenta resultados de su biología reproductiva e información del ancho del disco entre hembras y machos.	<i>Rhinoptera steindachneri</i>	Golfo de California, México.
Factores de cambio y estado de la biodiversidad.	Challenger, A., Dirzo, R., López, J. C., Mendoza, E., Lira-Noriega, A., & Cruz, I.	2009	Abordando la diversidad de actividades antropogénicas y su impacto en las comunidades marinas. Marca a la pesca como un destructor de los niveles tróficos e incentiva a implementar técnicas de pesca sostenible y el monitoreo de las comunidades marinas para asegurar la continuidad de la pesca comercial.	Pesca Biodiversidad	México
Reconstrucción de capturas por especie de la pesca artesanal de rayas del Golfo de California, 1997-2014.	Saldaña-Ruiz, L. E., Sosa-Nishizaki, O., Ramírez-Mendoza, Z., Pérez-Miranda, M. A., Rocha-	2016	Destaca a las rayas como un factor importante dentro de la pesca artesanal. Esto se debe a su uso como alimento y fuente de ingreso para los pescadores locales. La <i>Rhinoptera steindachneri</i> está catalogada	<i>Rhinoptera steindachneri</i> Pesca artesanal	Golfo de California, México

	González, F. I., & del Carmen Rodríguez-Medrano, M.		entre las 5 especies más capturadas en el Golfo de California.		
Demografía y vulnerabilidad de la raya tecolote <i>Rhinoptera steindachneri</i> (Elasmobranchii: Rhinopteridae) en el golfo de California, México.	Colin, L. D. C.	2019	Señala la importancia del uso de análisis demográficos en busca de información sobre la tasa de crecimiento poblacional y supervivencia de la <i>R. steindachneri</i> . Cataloga a la especie como vulnerable por sus características biológicas (crecimiento lento, maduración tardía y reproducción lenta).	<i>Rhinoptera steindachneri</i>	Golfo de California, México
Etapas y causas de la sexta extinción en masa. <i>La vida en el terciario. Del impacto del meteorito al origen del hombre</i> , 187-203.	Molina, E.	2008	Comparada con las otras cinco extinciones masivas, en esta señala al ser humano como la causa principal. Las actividades antrópicas se convirtieron en una amenaza para la supervivencia de la biodiversidad y para la humanidad también, siendo el ser humano quien depende de los recursos ecosistémicos, sugiriendo una alianza entre ambos campos para mantener un equilibrio antes de llegar a una etapa irreversible.	Sobrepesca	Global
Riesgo de extinción y conservación de los tiburones y rayas del mundo.	Dulvy, NK, Fowler, SL, Musick, JA, Cavanagh, RD, Kyne, PM, Harrison, LR, ... y White, WT	2014	Preocupación por la disminución de la biodiversidad oceánica. El 37.4% de los condriktios se encuentran en peligro de extinción, y el aumento del comercio de aletas es considerado como “un manjar” en países de Asia. Cada año, las rayas lideran la captura de condriktios y en los desembarques de las últimas décadas, su presencia es cada vez más notoria.	Rayas y tiburones	Global
Nicho trófico de <i>Rhinoptera steindachneri</i> en La Bahía de La Paz, Baja California Sur, México.	Ehemann, N. R..	2017	Información sobre la alimentación de la <i>Rhinoptera steindachneri</i> , y su preferencia por ciertas presas y la diversidad de su dieta si es general o específica. No detalla con precisión la dieta de las presas porque la mayoría presentaron estómagos vacíos. El 2.9% tenía alimento en su estómago y pertenecían a seis tipos de presas: Annelida, Crustacea, Mollusca y Teleostei.	<i>Rhinoptera steindachneri</i>	Bahía de La Paz, Baja California Sur, México.

GUÍA INFORMATIVA

El producto de la búsqueda de información y de consolidar la información ecológica sobre la especie *Rhinoptera steindachneri* fue la creación de la guía presentada en la Figura 6. Este documento no solo destaca la importancia de las rayas doradas en el ecosistema marino, sino que también ofrece información detallada sobre su hábitat, comportamiento, alimentación y amenazas que enfrentan debido a la actividad humana y el cambio climático. Además, dentro de la guía se puede observar ilustraciones, mapas de distribución y recomendaciones para su protección, fomentando la sensibilidad y el compromiso con la comunidad local y los turistas interesados en preservar la biodiversidad marina.



Figura 6. Portada + código QR de la guía con la información ecológica y la importancia de la especie *Rhinoptera steindachneri* dentro de las islas Galápagos.

Link de la guía ecológica:

https://www.canva.com/design/DAGcTcSddrI/MISgYU8X0s2nbDVKk_EZlw/edit?utm_content=DAGcTcSddrI&utm_campaign=designshare&utm_medium=link2&utm_source=sharebutton

DISCUSIÓN

El proceso de identificación molecular confirmó la identidad de las muestras de rayas recolectadas en Galápagos como *R. steindachneri*. El árbol filogenético agrupa las muestras de Galápagos con la única muestra de *R. steindachneri* de NCBI. No obstante, es importante mencionar que genéticamente esta especie se encuentra cercanamente relacionada con la especie *R. brasiliensis*, hecho que ha sido previamente reportado en la literatura (Palacios-Barreto *et al.*, 2023). Algo interesante es que ambas especies presentan diferentes áreas de distribución (Anexo C). Por un lado, *R. steindachneri* se distribuye en el Pacífico Centro-Oriental desde el norte de México hasta el norte de Perú, incluyendo las Islas Galápagos, mientras que *R. brasiliensis* habita en el atlántico Occidental, desde el Sur de Brasil hasta el Golfo de México, arrojando bajas posibilidades de una identificación errónea. Por otro lado, sorprendentemente las muestras de México que deberían corresponder a la especie *R. steindachneri*, se agruparon con individuos de la especie *R. bonasus*, distribuida en el Atlántico occidental. Este proyecto al igual que investigaciones de Jones *et al* (2017) y Sandoval-Castillo y Rocha-Olivares (2011) respaldan la presencia de especies crípticas dentro del género *Rhinoptera*, especialmente en el Pacífico Oriental. A futuro, se recomiendan estudios que combinen información molecular y morfológica para elucidar las relaciones entre las especies del Pacífico Oriental.

Es importante mencionar que, hasta la actualidad no existían estudios que demuestren que la raya dorada de Galápagos corresponde a *Rhinoptera steindachneri*. Este análisis genético es el primero en confirmar la identidad molecular de la especie, aportando significativamente al conocimiento sobre esta especie, y brindando una base para investigaciones futuras. Aunque en otras regiones del mundo existen estudios sobre esta especie, este proyecto contribuye con conocimiento a nivel local. Esto es importante porque incluso dentro de una misma especie,

podrían existir diferencias a nivel poblacional a lo largo de su distribución geográfica. Estas diferencias pueden presentarse por factores como disponibilidad de alimento, variación en el ecosistema, interacción con otras especies, interacción con humanos, etc. Además, las amenazas y desafíos de conservación pueden variar entre poblaciones, por lo que es necesario identificar las necesidades locales.

Los datos morfológicos (medidas del ancho de disco - AD) colectados para cada muestra del Proyecto de Rayas (Anexo D) permitieron identificar que la mayoría de individuos corresponden a juveniles (44 a 69 cm AD), entrando en etapa de madurez y pocos individuos fueron neonatos. Esto sugiere que dentro de Galápagos podrían existir zonas de crianzas. Esta hipótesis va respaldada con evidencias de la clasificación por AD de las rayas y toma de fotografías de drones durante las salidas de campo. Estos datos resaltan la necesidad de un análisis más profundo capaz de brindar información importante para la conservación de la especie y su importancia ecológica dentro de esta zona geográfica, considerando que las características reproductivas de la *Rhinoptera steindachneri* (lenta reproducción y gestación de una cría por año) (Last et al. 2016) las vuelven vulnerables. Por esta razón, es importante entender las amenazas de actividades locales como pesca artesanal y turismo que pueden presentarse sobre esta especie dentro de la Reserva Marina de Galápagos. Además, con estos hallazgos se puede promover nuevas iniciativas de protección y conservación, considerando que su zona de reproducción es la misma zona donde se desarrollan dichas actividades, las cuales representan una fuente de sustento importante dentro de la economía local.

Durante la búsqueda de literatura, una de las limitantes que se identificó fue la diversidad de nombres comunes que varía a lo largo de su zona de distribución, presentándose como; chucho dorado, tecolote, cara/nariz de vaca y gavián dorado. También, al ser físicamente similar a otras especies con la que comparte su género, promueve a que personas relacionadas con la pesca artesanal, personas de la localidad y turistas las confundan entre sí, llamando a todas

como “raya nariz/cara de vaca”, por lo tanto, este nombre común es global para este género. Tras la búsqueda usando el término raya nariz de vaca se pudo recolectar diversa información, en las que algunas usaban el nombre científico perteneciente de la especie, mientras que otras no, un ejemplo es la publicación de “Raya nariz de vaca de la bahía de Chesapeake”, ubicada en el océano atlántico de Estados Unidos (Bass & Dann, 2016). En esta publicación se asume directamente que no se trataba de *Rhinoptera steindachneri* debido a que la ubicación indicada no forma parte de la distribución de esta especie. Sin embargo, se investigó más a detalle sobre el género que se encuentra dentro de Chesapeake, y se identificó que hace referencia a *R. bonasus*. Esta situación sirvió como una advertencia para dar mayor atención a la información que se estaba recaudando para este proyecto. También, este problema, nos muestra la importancia del uso de su nombre científico para evitar confusiones en búsqueda global. El nombre común de “raya dorada” es único del Ecuador, especialmente en Galápagos, lo que ayuda a tener una identificación clara de la especie, sin embargo, es útil para búsquedas únicamente dentro de esta zona geográfica.

En el transcurso de la búsqueda, otra de las problemáticas presentes es la baja recolección de datos para Galápagos. Se encontró datos básicos en pocas páginas sobre su taxonomía y ecología como; color, ancho del disco, alimentación, profundidad y distribución. En el resto de sitios web es posible encontrar lo mismo pero acompañado de su desarrollo dentro de las Islas Galápagos, catalogada como una especie atractiva e interesante para la actividad turística. Sin embargo, esta información fue muy limitada, lo que llevó al siguiente paso; realizar una nueva búsqueda a rango global, haciendo posible complementar datos importantes de la especie.

En este contexto, destaca México como uno de los lugares de distribución que presenta mayor conocimiento de la especie en términos genéticos, de su nicho trófico, hábitos alimenticios, estrategias de reproducción y estimaciones de edad y crecimiento de las rayas doradas. Además, estudios enfocados en su demografía y vulnerabilidad, señalando aquellas amenazas a las que

se enfrenta constantemente esta especie (Colin, 2019). Una posibilidad de la diversidad de estos estudios puede ser por los constantes problemas que enfrentan ante la pesca artesanal dentro de este país, una problemática que es debatida constantemente. Esta actividad antropogénica representa una de las principales causas de captura de rayas, resultando difícil de combatir por su importancia como fuente de empleo y ser un motor socioeconómico dentro del territorio mexicano, especialmente en el Golfo de California. Esta zona es denominada como el lugar con más capturas de todo el país, al representar el 58% de pesca nacional (Saldaña-Ruiz et al. 2016).

En Galápagos, debido a la falta de información y estudios sobre esta especie no sabemos en qué grado se encuentra afectada por la pesca artesanal local y otras actividades antropogénicas. Por lo tanto, no se han generado estrategias que ayuden directamente a su manejo y conservación. Si bien globalmente su estado de conservación se encuentra como “casi amenazada” de acuerdo a la evaluación de la UICN (Pollom et al, 2020). Es importante resaltar que las amenazas varían en cada región, por lo que es indispensable entender su situación a lo largo del rango de distribución (Colin, 2019). Se considera a esta especie difícil de adaptarse a la explotación pesquera y requiere de grandes evaluaciones, debido a su lenta reproducción y fecundación de un único embrión (Colin, 2019).

Por esta razón, la guía ecológica elaborada en este proyecto, busca brindar un aporte de conocimiento local, con la finalidad de entender mejor lo afortunados que somos al vivir en medio de una gran diversidad de ecosistemas, flora y fauna. Además, otra de sus funciones es su uso como una herramienta para la identificación y monitoreo de la especie, práctico para salidas de campo y actividades turísticas de observación. También, existen proyectos de ciencia ciudadana que recopilan información sobre rayas y tiburones pudiendo utilizar este contenido para compartirlo, considerando que es de vital importancia que la comunidad conozca, se interese y pueda identificar esta especie. Dentro de esta guía, hay una zona didáctica para

conocer de una forma divertida su variedad de nombres comunes, un dato interesante que puede ser útil para compartir mejor la información sobre esta especie a turistas.

CONCLUSIÓN

Este proyecto permitió confirmar la identidad molecular de la especie, siendo las Rayas doradas de Galápagos *Rhinoptera steindachneri*. La búsqueda de literatura permitió saber más sobre su ecología, distribución, hábitat, comportamiento, amenazas a las que se enfrenta actualmente, todos temas importantes de conocer dentro de Galápagos para tomar medidas de conservación. La guía ecológica contiene información general y específica, con el objetivo de transmitir de una forma creativa este contenido al público.

Pese a que los resultados de identidad confirmaron que sí es una *R. steindachneri*, la única muestra de esta especie disponible en Genbank limitó obtener resultados más claros, reflejando su cercanía con *R. brasiliensis* y su gran similitud genética. Los resultados obtenidos en este proyecto resaltan la importancia de herramientas genéticas como instrumento clave para la identificación precisa de las especies que predominan en Galápagos y a lo largo del Pacífico Oriental. Tras esto, la aplicación de métodos moleculares ayudó a detectar las diferencias genéticas entre los individuos estudiados (Galápagos y México), resaltando la posibilidad de especies crípticas dentro de la zona de distribución de *Rhinoptera steindachneri*. Este hallazgo pone en cuestionamientos la taxonomía actual del género *Rhinoptera* y la falta de investigación en el tema, buscando reforzar y recomendar la necesidad de nuevos estudios genéticos, ecológicos, morfológicos, comportamientos y geográficos complementarios para aclarar correctamente las especies que se encuentran habitando en el Pacífico y darle una identidad a estas especies crípticas que se presentaron en este y otros estudios previos.

En conclusión, este estudio aporta evidencia importante para la continuación de investigación al género *Rhinoptera* en el PO y la especie presente en Galápagos, relacionado con su conservación y conocimiento dentro de la comunidad galapagueña.

REFERENCIAS

- Burgos-Vázquez, M. I., Chávez-García, V. E., Cruz-Escalona, V. H., Navia, A. F., & Mejía-Falla, P. A. (2018). Reproductive strategy of the Pacific cownose ray *Rhinoptera steindachneri* in the southern Gulf of California. *Marine and Freshwater Research*, 70(1), 93-106.
- Bass, M. & Dann, B. (2016). Raya nariz de vaca de la bahía de Chesapeake. *The Ocean Foundation*.
<https://oceanfdn.org/es/cownose-ray-of-the-chesapeake-bay/#:~:text=Las%20rayas%20nariz%20de%20vaca%20viajan%20a%20%C3%A1rea%20de%20la,en%20el%20sur%20de%20Maryland>.
- Colin, L. D. C. (2019). Demografía y vulnerabilidad de la raya tecolote *Rhinoptera steindachneri* (Elasmobranchii: Rhinopteridae) en el golfo de California, México.
- CUNHA, Y. T. C. D. (2022). Relações filogenéticas do gênero *Rhinoptera* Van Hasselt, 1824 com ênfase nas espécies do Atlântico Sul Ocidental.
- Challenger, A., Dirzo, R., López, J. C., Mendoza, E., Lira-Noriega, A., & Cruz, I. (2009). Factores de cambio y estado de la biodiversidad. *Capital natural de México*, 2, 37-73.
- de Guevara, G. C. L., Antonio, E. R., Carrillo, S. R., Medina, G. G., Tolentino, V. A., Herrera, D. L., & Martínez, S. K. (2014). Impacto de la actividad pesquera sobre la diversidad biológica: Revisión para el Pacífico sur de México. *Revista Iberoamericana de Ciencias*, 1(1), 95-114.
- Del Pozo Barrezueta, H. (2015). Ley Orgánica de Régimen Especial de la Provincia de Galápagos. *Registro Oficial: Quito, Ecuador*.

Danulat. E. & GJ Edgar (eds.) 2002. Reserva Marina de Galápagos. Línea Base de la Biodiversidad. Fundación Charles Darwin/Servicio Parque Nacional Galápagos, Santa Cruz Galápagos, Ecuador. 484 Pp.

DOF Diario Oficial de la Federación. (2013). Acuerdo por el que se modifica el aviso por el que se da a conocer el establecimiento de épocas y zonas de veda para la pesca de diferentes especies de la fauna acuática en aguas de jurisdicción federal de los Estados Unidos mexicanos, publicado el 16 de marzo de 1994, para establecer el periodo de veda de jaiba en Sonora y Sinaloa.

Dulvy, N. K., Fowler, S. L., Musick, J. A., Cavanagh, R. D., Kyne, P. M., Harrison, L. R., ... & White, W. T. (2014). Extinction risk and conservation of the world's sharks and rays. *elife*, 3, e00590.

EPI-Ecuador. (2022). “Compendio de Contenidos Esenciales sobre Biodiversidad Marina y Terrestre para la Contextualización Curricular con enfoque de Sostenibilidad para Galápagos”. Puerto Ayora, Galápagos.

Ehemann, N. R. (2017). *Nicho trófico de Rhinoptera steindachneri en La Bahía de La Paz, Baja California Sur, México* (Doctoral dissertation, Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas).

Green Filer, J. R. (2012). *Galápagos ocean, earth, wind & fire*. Quito, Ecuador: Green Filer, Jonathan Richard

Geneious Prime. (30 Julio, 2024). *Geneious Prime 2025.3.0*. Biomatters. <https://www.geneious.com/updates>

“Galapagos Species Database, *Rhinoptera steindachneri*”, dataZone. Charles Darwin Foundation, <https://datazone.darwinfoundation.org/es/checklist/?species=7857>. Accessed 3 February 2025.

Jones, C. M., Hoffmayer, E. R., Hendon, J. M., Quattro, J. M., Lewandowski, J., Roberts, M. A., ... & Marquez-Farias, J. F. (2017). Morphological conservation of rays in the genus *Rhinoptera* (Elasmobranchii, Rhinopteridae) conceals the occurrence of a large batoid, *Rhinoptera brasiliensis* Müller, in the northern Gulf of Mexico. *Zootaxa*, 4286(4), 499-514.

Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., & Tamura, K. (2018). MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular biology and evolution*, 35(6), 1547-1549.

Last, P., Naylor, G., Séret, B., White, W., de Carvalho, M., & Stehmann, M. (Eds.). (2016). *Rays of the World*. CSIRO publishing.

Márquez-Farías, J. F., & Blanco-Parra, M. P. (2006). Las rayas del Golfo de California. *Sustentabilidad y Pesca Responsable en México, Evaluación y Manejo*. INAPESCA, SAGARPA, México, 303-322.

Molina, E. (2008). Etapas y causas de la sexta extinción en masa. *La vida en el terciario. Del impacto del meteorito al origen del hombre*, 187-203.

Ward, R. D., Zemlak, T. S., Innes, B. H., Last, P. R., & Hebert, P. D. (2005). DNA barcoding Australia's fish species. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 360(1462), 1847-1857.

MAATE (2023). Plan de Manejo de la Reserva Marina Hermandad. Ministerio del Ambiente, Agua y Transición Ecológica. Dirección del Parque Nacional Galápagos.

Subsecretaria de Patrimonio Natural. Fundación de Conservación Jocotoco. Biogennia Cia. Ltda.

National Library Of Medicine. (2023). Standard Nucleotide BLAST. https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?CMD=Web&PAGE_TYPE=BlastHome

NCBI. (s.f.). *Mission*. National Library of Medicine. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/home/about/mission/>

Palacios-Barreto, P., Mar-Silva, A. F., Bayona-Vasquez, N. J., Adams, D. H., & Díaz-Jaimes, P. (2023). Characterization of the complete mitochondrial genome of the Brazilian cownose ray *Rhinoptera brasiliensis* (Myliobatiformes, Rhinopteridae) in the western Atlantic and its phylogenetic implications. *Molecular Biology Reports*, 50(5), 4083-4095.

Pollom, R., Avalos, C., Bizzarro, J., Burgos-Vázquez, M.I., Cevallos, A., Espinoza, M., González, A., Herman, K., Mejía-Falla, P.A., Morales-Saldaña, J.M., Navia, A.F., Pérez Jiménez, J.C., Sosa-Nishizaki, O. & VelezZuazo, X. 2020. *Rhinoptera steindachneri*. Lista Roja de Especies Amenazadas de la UICN 2020: e.T60130A124442442. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2020-3.RLTS.T60130A124442442.en>

QIAGEN. (2013). DNeasy Blood & Tissue Kits. <https://www.qiagen.com/us/products/discovery-and-translational-research/dna-rna-purification/dna-purification/genomic-dna/dneasy-blood-and-tissue-kit>

Sandoval-Castillo, J., & Rocha-Olivares, A. (2011). Deep mitochondrial divergence in Baja California populations of an aquilopelagic elasmobranch: the golden cownose ray. *Journal of Heredity*, 102(3), 269-274.

Salomón-Aguilar, C. A. (2015). Zonas prioritarias de conservación de rayas y mantarrayas en el noroeste del Pacífico mexicano. *Ciencia pesquera*, 23(2), 77-99.

Saldaña-Ruiz, L. E., Sosa-Nishizaki, O., Ramírez-Mendoza, Z., Pérez-Miranda, M. A., Rocha-González, F. I., & del Carmen Rodríguez-Medrano, M. (2016). Reconstrucción de capturas por especie de la pesca artesanal de rayas del Golfo de California, 1997-2014. *Ciencia Pesquera*, 24, 81-96.

Tapia Núñez, L. (22 julio, 2014). Plan de Manejo de Áreas Protegidas de Galápagos Para El Buen Vivir. No. 162. Parque Nacional Galápagos.

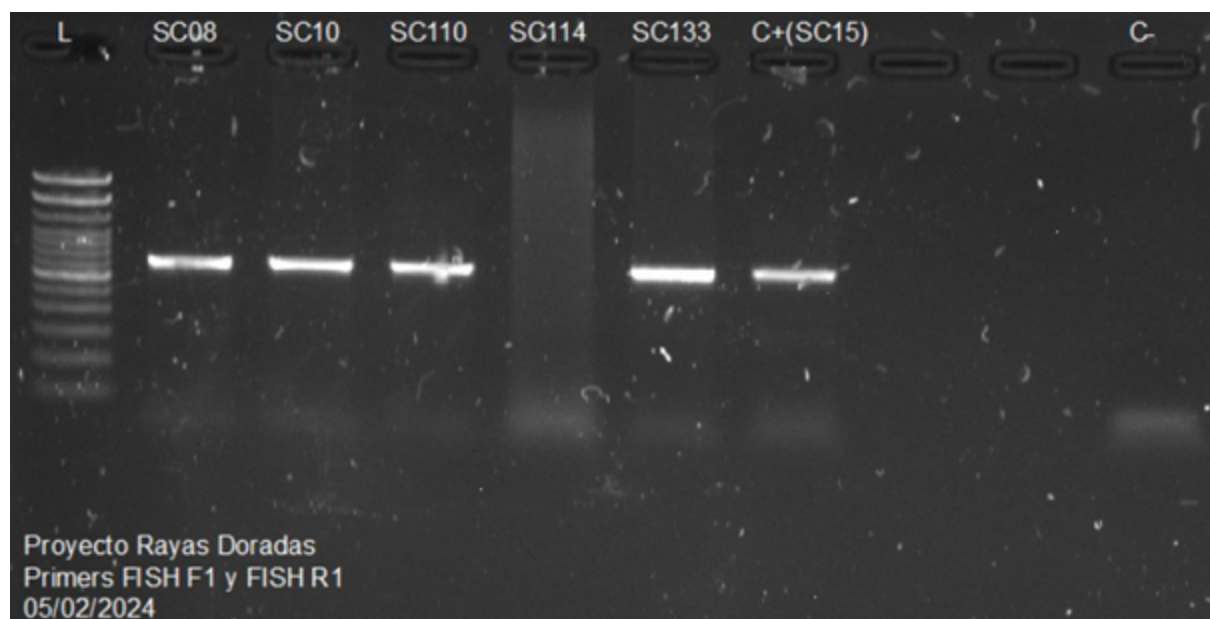
Thermo Fisher Scientific. (2015). Thermo Fisher Scientific. <https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/CAD/manuals/NanoDrop-2000-User-Manual-EN.pdf>

Wheeler, D., & Bhagwat, M. (2007). BLAST QuickStar. En *Comparative Genomics: Volumes 1 and 2*. Humana Press. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1734/>

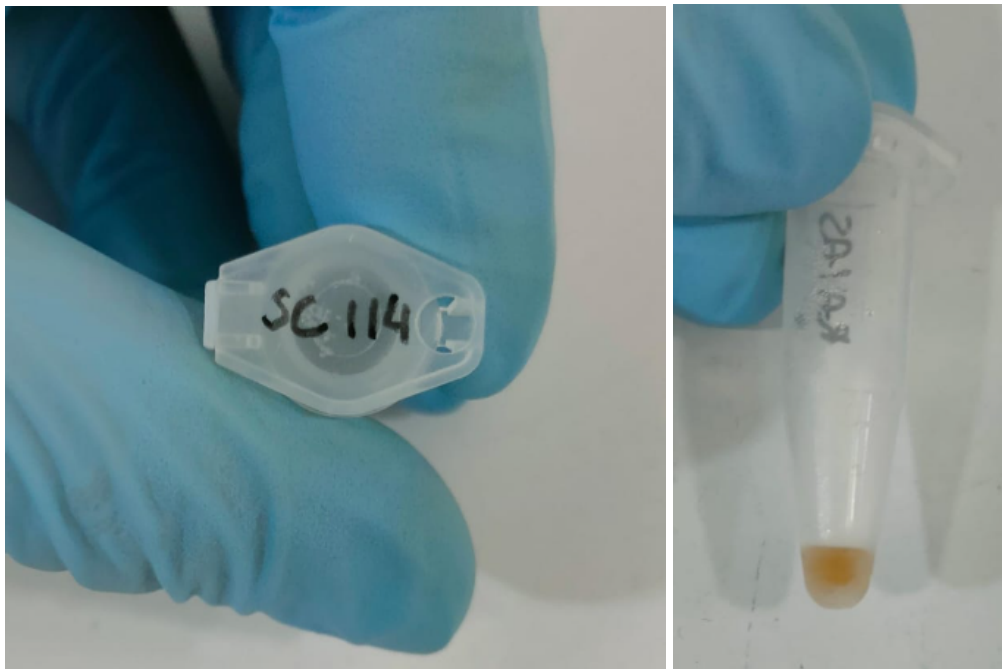
Weber, H. K., Jones, C. M., Ajemian, M. J., McCallister, M. P., Winner, B. L., Poulakis, G. R., ... & Phillips, N. M. (2021). Genetic evidence supports a range extension for the Brazilian cownose ray *Rhinoptera brasiliensis* in the western North Atlantic. *Journal of fish biology*, 98(2), 577-582.

ANEXOS

ANEXO A: En la presente imagen se muestra una PCR utilizando los primers Fish F1 y Fish R1 en un gel de agarosa 1,5 % (p/v) para las muestras SC00008, SC00010, SC00110, SC00114, SC00133. Mostrando una amplificación exitosa de todas las muestras excepto de la muestra SC00114. El control positivo SC15 es una muestra de *A. laticeps*, previamente amplificada por Pamela Vega en septiembre de 2019.



ANEXO B: Elucipin de nuestra SC00114. En la presente muestra se observa una tonalidad amarillenta en lugar de transparente que caracteriza a las demás eluciones de las muestras de las cuales se extrajo ADN (SC00008, SC00010, SC00110 Y SC00133).



ANEXO C: Mapa de distribución de *Rhinoptera steindachneri* en el Pacífico Centro-Oriental y *Rhinoptera brasiliensis* por el Atlántico Occidental.



ANEXO D: Clasificación de muestreo neonatos, juveniles y adultos de rayas doradas presentes en Galápagos.

Isla: San Cristóbal						
DW	<43 cm Neonato	44-69 cm Juvenil	>70 cm Adulto	Indefinidos (cm)	Total	
Hembras	2	12	2		16	Hembras
Machos	1	21	1		23	Machos
Indefinidos	1				5	Indefinidos
Individuos	4	33	3	4	44	Total individuos
Isla: Isabela						
DW	<43 cm Neonato	44-69 cm Juvenil	>70 cm Adulto	Indefinidos (cm)	Total	
Hembras					0	Hembras
Machos					0	Machos
Indefinidos		5	19		24	Indefinidos
Individuos	0	5	19	0	24	Total individuos

Nota: Muestras recolectadas bajo el permiso MAE-DNB-CM-2016-0041 del Ministerio del Ambiente, Agua y Transición Ecológica.